

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月10日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～20112

課題番号：23655064

研究課題名（和文）新規同期イメージング法の開発

研究課題名（英文）Investigation on a Novel Synchronous Imaging Method

研究代表者

火原 彰秀 (HIBARA AKIHIDE)

東京大学・生産技術研究所・准教授

研究者番号：30312995

研究成果の概要（和文）：高度なレーザー分光法は様々な物理・化学情報を得ることができるが、イメージング法との相性は必ずしもよくない。その一因は、画像化装置と信号処理を同時に実現することが困難だからである。本研究では、CCDをはじめとしたイメージセンサを検出器としたダウンコンバージョン法の提案・実証・応用と、その手法の感度や測定簡便性を大幅に改善できるアナログ CMOS 装置設計のための基礎検討を目的として研究を進めた。12 bit の CCD を用いた光熱変換画像化の原理検証に成功した。また、増幅回路を組み込んだ CMOS 画像化素子実現のための基礎検討を行った。具体的には、光ダイオードと自作アナログ回路により、ダウンコンバージョン法の実現可能性を検討した。

研究成果の概要（英文）： Advanced laser spectroscopic methods have been utilized to get various physical and chemical informations. Generally, a combination of imaging with them is not easy because of difficulties concerning to simultaneous imaging and signal processing. In this study, a down-conversion method utilizing image-sensors such as CCD has been proposed and demonstrated. In addition, preliminary investigation on analog-circuit design method for CMOS has been performed. First, principle of the synchronous detection method has been demonstrated with a 12-bit CCD. Then, in order to design CMOS imaging device, the analog circuit with amplifier has been investigated with a photodiode.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学、分析化学

キーワード：レーザー分光、チップ分析

1. 研究開始当初の背景

イメージング法は、細胞などの生化学過程を知る上で非常に重要なツールである。一方で、レーザー分光法には多種多様な手法があり、試料に対する様々な物理・化学情報を得ることができる手法である。高感度検出に加えて、分子振動・分子運動・励起状態、光化学反応、光電変換などが解析できる有用な手法であることは疑いない。

高度なレーザー分光法では、図1に示すような、複数のレーザーを使う手法が一般的である。このような手法をイメージング法に適用できれば、生命化学やマイクロ・ナノ科学などに大きな発展をもたらすと期待できる。

しかし、高度なレーザー分光法では、

- ・信号が非常に微小で特殊な信号処理装置が必要
- ・信号とレーザー光の分離に高価な素子が必

要

などが制約となり、通常 CCD カメラを画像化装置とするイメージング法との相性がよくないことが多い。

レーザーを1点に集光して試料を走査する手法もあるが、操作に時間がかかることなどの不利がある。CCD のような画像化装置を用いて高度なレーザー分光法が実現できれば、理想的である。

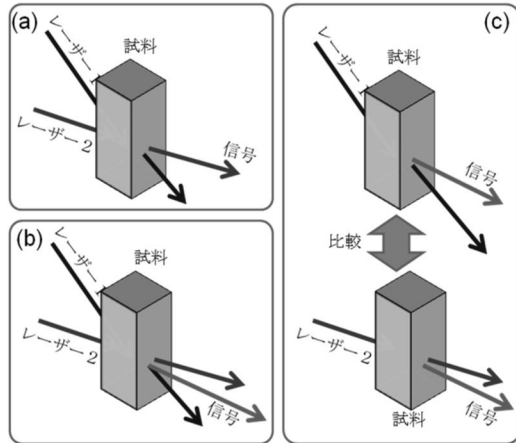


図1 複数のレーザーを用いるレーザー分光法の光学配置の例。(a)1で誘起した現象を2で計測する例(熱レンズ法、準弾性光散乱法、過渡吸収法など)。(b)1と2と試料の相互作用により新しい信号光がでる例(CARS法、過渡格子法など)(c)1による信号光と2による信号光を比較する例

2. 研究の目的

本研究の目的は、高度なレーザー分光法をイメージング法に適用するための新しい信号処理法と新しい画像化装置を構築することである。具体的には

- (1) CCD を検出器とした画像処理法(ダウンコンバージョン法)の提案・実証・応用
- (2) 上記画像処理法を高感度化する「増幅回路を組み込んだ CMOS 画像化素子」実現の基礎

に挑戦する。

3. 研究の方法

【CCD同期法】

CCD は画素あたりに換算すれば高速に動作しているが、画像の更新速度は通常 10Hz オーダーである。高速カメラは数 kHz 以上で画像更新するものもあるが、現状ではデータ量が膨大になりすぎるために分析に使用可能ものではない。そこでダウンコンバージョン法を用いることを着想した。

図 2a に示すように、試料と相互作用して現象を誘起するレーザー 1、その現象を計測するレーザー 2 をそれぞれ異なる周波数で変調する。これらの差周波数(例えば 5Hz)

に相当するうなりが、レーザー 2 の出力に現れる。CCD 動作周波数を差周波数の 4 倍(例えば 20Hz、通常の CCD の動作周波数として一般的な範囲)に設定することで、うなり 1 周期あたり 4 枚の画像が取得できる。この画像をパソコン(PC)に取得後、四則演算・積算する(図 2b)。レーザー 1 の変調周波数で変動している現象のみの画像化が可能となるため、結果的に周波数フィルターと測定の低周波数化が実現できる。光熱変換分光法を例に、それぞれの変調周波数と感度、空間分解能、周波数選択性など、本手法の基本特性を明らかにし、最適な周波数条件を決定する。

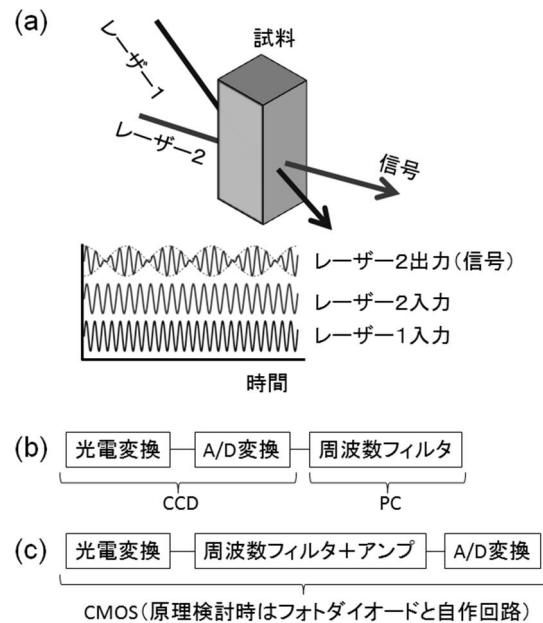


図2 (a)ダウンコンバージョン法の概念図。(b)CCDを用いた場合の信号処理。(c)CMOSを想定した信号処理。

【アナログ回路検討】

CCD を検出器として用いる場合、図 2b に示すように光強度を電気信号に変換してすぐに、アナログ/デジタル(A/D)変換するため、計測の感度は A/D 変換の bit 数に制限される。例えば、12bit の CCD を用いる場合、4096 階調であり、光強度の 10,000 分 1 の信号強度を取得することは原理上できず、本手法の感度上の制約となる。この問題を解決するためには、図 2c に示すように A/D 変換前にアナログ信号処理をする必要があり、光電変換する素子ごとに信号処理回路を集積化することを考えるとアナログ CMOS 回路を用いることが適切である。

しかし、最初から CMOS 回路を設計・作製することは、金銭的・人的・時間的コストの問題から適切ではない。そこで、CMOS 回路を設計するために必要な知見を、フォトダイオードを用いた自作回路にて得る。フォトダ

イオード、フィルタ・アンプ回路、検波回路までを含んだ自作回路を作製し、光熱変換分光法を例に回路を検証する。差周波数の範囲や入力電圧の範囲、増幅率とノイズの関係などを明らかにしてアナログ CMOS 回路設計の基盤となる知見を得る。

4. 研究成果

【CCD 同期法】

CCD 同期法は、変調された信号の振幅成分 (AC) とオフセット成分 (DC) を分離して画像化する手法である。はじめに、 f Hz で強度変調された光を同期検出するという単純な系を想定する。

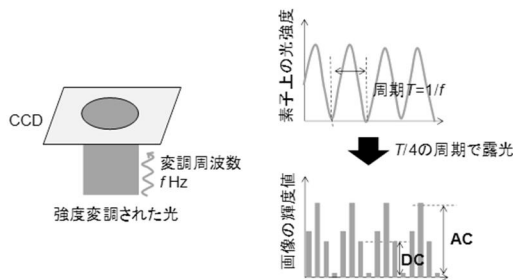


図3 CCD 同期検出の例 (周波数 f Hz で変調された光の検出)

光熱変換画像化法では、 f_{ex} Hz の光熱変換信号を f_{pr} ($= f_{ex} + f$) Hz で強度変調した検出光で検出する。このときに生じるうなり (f Hz) の振幅を光熱変換信号として同期検出する。光熱変換分光法では一般的に光熱変換分光法では一般的に kHz のオーダーで信号を変調させるため、CCD を応答させることは困難である。しかし、このように低周波のうなり作り出すことで、CCD 同期法の利用が可能になる。

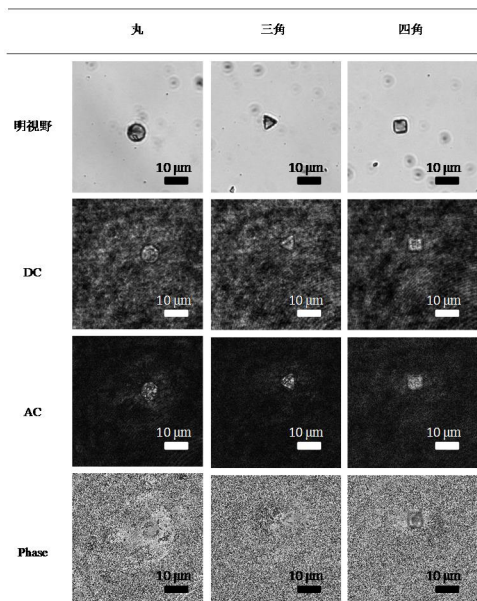


図4 CCD 同期検出の例 (周波数 f Hz で変調され

た光の検出)

CCD 同期法によりバックグラウンドおよび光熱変換信号が画像化されることを確認するため、実際に測定を行った。対物レンズによって励起光を 30 μ m 程度に集光し、励起領域全体にプローブ光照射した。試料には、SUDAN IV トルエン溶液 (濃度 1.0×10^{-5} M) を用いた。試料は、深さ 10 μ m の円、三角形、四角形の溝に導入し、カバーガラスで蓋をした。円または三角形、四角形の外接円の直径は、10 μ m である。励起光および検出光をそれぞれ 1743 Hz、1748 Hz で変調した。溝の明視野画像および CCD 同期法による光熱変換画像化法で得られた吸光度画像を図 4 に示す。DC 画像は、検出光を照明光とした場合の明視野画像と同等である。ここから、光熱変換信号以外のバックグラウンド成分も A/D 変換されていることが分かる。AC 画像は光熱変換信号の分布 (吸光度分布) を示す画像である。溝の形に応じた吸光度分布が得られていることが分かる。溝の形は、位相画像にも表れている。四角の溝に導入した試料に対して、励起光を照射した場合としていない場合で得られた画像を比較した。励起光が照射した場合のみ、四角の形状が見えていることから、光熱変換信号が画像化されていることがわかる

【アナログ回路検討】

本実験で用いた光学系を図 5 に示す。励起光 ($\lambda = 532$ nm) および検出光 ($\lambda = 633$ nm) を音響光学素子で強度変調した後、ダイクロイックミラーにより同軸に導光する。音響光学素子には、信号発生器から任意の周波数の正弦波信号を送ることで、正弦的に変調した。その後、倍率 10 倍 ($NA=0.3$) の対物レンズによって、幅 100 μ m、深さ 40 μ m のマイクロチャンネル内の試料に集光される。励起光を波長フィルタでカットし、検出光をフォトダイオードで検出する。励起光および検出光の変調周波数 (f_{ex} , f_{pr}) を変化させながら、得られた光熱変換信号 (f Hz) の振幅成分の変化を観察した。

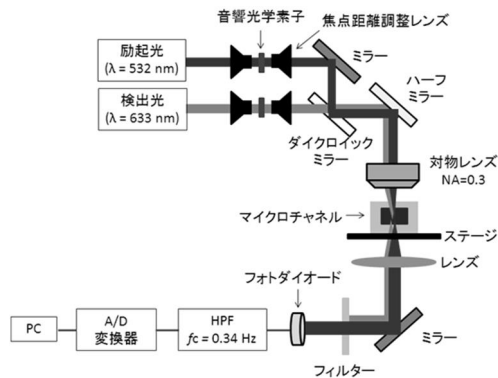


図5 アナログ信号処理法

設計した回路のブロック図を図6に示す。

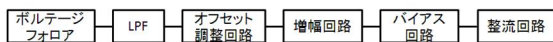


図6 設計した同期検出回路のブロック図

ボルテージフォロアは、フォトダイオードの入力インピーダンスが後段のLPFの特性に与えることを防ぐ役割を持つ。LPFは高周波成分のバックグラウンド f_p を取り除くためのフィルタである。直流のオフセット成分は、その後に設けた、オフセット調整回路をで取り除く。LPFには高い透過特性を持つアクティブフィルタを用いた。BPFを用いなかったのは、高い透過特性にすると信号が不安定になるためである。

増幅回路には汎用のOPアンプを搭載した。バックグラウンドが含まれていても増幅率を大きく取れるよう、最大出力電圧が約28Vと高いOPアンプを用いた。

増幅された信号は、バイアス回路を通して整流回路に送られる。バイアス回路を設けた理由は、整流回路を構成するダイオードの順方向電圧降下により、低電圧信号に対する感度が著しく低下してしまうためである。バイアス回路は、直流成分をカットするHPFとオフセット調整回路で構成される。増幅回路からの信号のオフセットを取り除くことで、系のバックグラウンドの大きさによらず一定のバイアス電圧をかけることができる。整流回路は、ダイオードとコンデンサおよび抵抗で構成される。コンデンサ容量および抵抗の大きさは、信号の変動となるリップル電圧と応答時間に影響を与える。リップル電圧と応答時間はトレードオフの関係にあるが、今回は感度を重視した回路設計を行うため、リップル電圧が少なくなるような設計にした。回路の例を図7に示す。

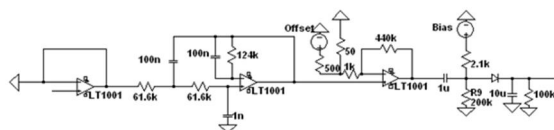


図7 同期検出素子の例

図8に、各濃度の試料から得られた信号の強度を示す。濃度が大きくなるにつれて信号がやや曲線的に増加しているのは、ダイオードの信号特性が表れているためだと考えられる。ブランク測定(試料濃度0M)の、20秒間の測定における信号値の標準偏差をノイズ()とすると、 ≈ 0.014 Vである。ブランク測定時の信号+3σを検出限界とすると、検出限界は吸光度0.12 Mになる。これは吸光度で表すと、 2.3×10^{-5} Abs.となる。ブランク測定時に、0.3 V程度のオフセットが存在する。これは、検出検およびバイアス電圧の影響だと考えられる。A/D変換機の検出上限を10Vとすると、低濃度信号検出のためにゲインを10倍程度かけられる。この場合の感度は吸光度で 10^{-6} のオーダーとなることが予想される。吸光度 10^{-6} から 10^{-5} はマイクロ流路内の希薄な溶液の定量に使える性能であり、流路内物質分布や細胞内物質分布の高感度イメージングに向けた指針が得られたといえる。

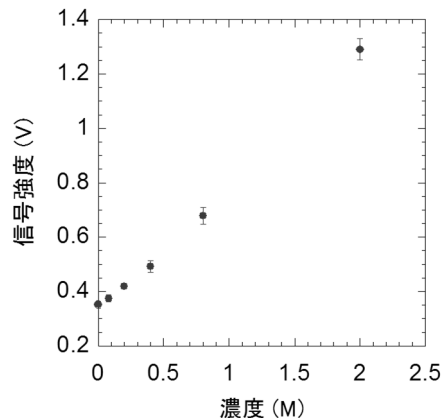


図8 同期検出素子を用いる光熱変換信号の検量線

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

1. M. Fukuyama, Y. Yoshida, J. C. T. Eijkel, A. van den Berg, A. Hibara, Time-resolved electrochemical measurement device for microscopic liquid interfaces during droplet formation, *Microfluidics and Nanofluidics*, in press. 査読有 doi:10.1007/s10404-012-1101-9
2. Y. Fujii, A. Hibara, Analog image sensor for highly sensitive spectroscopic imaging, *Proceedings of the 16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2012)*, 1, 1327-1329 (2012). 査

読有

3. C. Pigot and A. Hibara, Surface Tension Measurement at the Microscale by Passive Resonance of Capillary Waves, *Analytical Chemistry*, 84(5), 2557-2561 (2012). 査読有
doi:10.1021/ac3000804

[学会発表] (計 24 件)

1. 関一成, 風間佑斗, 火原彰秀, リソグラ 藤井優作, 火原彰秀, 二次元光熱変換イメージングへのアナログ信号処理法の応用, 第 2 回 CSJ 化学フェスタ, 東京, 2012.9.16.
2. フィーを利用した反射・分散光学素子の集積化, 第 2 回 CSJ 化学フェスタ, 東京, 2012.9.16.
3. Kazushige Seki, Yuto Kazama, Akihide Hibara, Lithographic Curved Surface Mirror for Optical System Integration, RSC-Tokyo International Conference, Chiba, 2012. Akihide Hibara, Liquid interfaces in micro analytical systems, 10th Nano and Micro Systems Workshop, Zao, 2012.5.28.
4. 福山真央, 吉田裕美, Eijkel Jan C.T., van den Berg Albert, 火原彰秀, マイクロ液滴生成の界面電気化学解析, 第 73 回分析化学討論会, 鹿児島, 2012.5.20.
5. 関一成, 風間佑斗, 火原彰秀, 可視及び赤外分光のオンチップ集積化, 第 25 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 熊本, 2012.5.18.
6. 宮崎公平, 火原彰秀, ゼル-ゲル法によるマイクロ流路部分コーティング法, 日本化学会第 92 回春季年会, 横浜, 2012.3.25.
7. 原田万里江, 福山真央, 佐藤香枝, 火原彰秀, マイクロ流体システムのための光分解性界面活性剤の合成と評価, 日本化学会第 92 回春季年会, 横浜, 2012.3.25.
8. A. Hibara, Microdroplets for chemical analysis, PITTCON 2012 (招待講演), Orlando USA, 2012.3.14.
9. 福山真央, 高木周, 火原彰秀, マイクロ液滴流におけるクラスター成長, 第 24 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 大阪, 2011.11.15.
10. 風間佑斗, 火原彰秀, 遮光材料を有する集積光学システムの作製法, 第 24 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 大阪, 2011.11.18.
11. 関康一郎, 火原彰秀, クロロホルム蒸気 原田万里江, 福山真央, 佐藤香枝, 火原彰秀, 光応答性流体を用いたマイクロ流体駆動法の開発, 第 1 回 CSJ 化学フェスタ, 東京, 2011.11.18.
12. に接触したイオン液体表面の準弾性光散乱スペクトル解析法, 第 1 回 CSJ 化学フ

ェスタ, 東京, 2011.11.15.

13. M. Harada, M. Fukuyama, K. Sato, A. Hibara, Photoresponsive Optofluidics and Light-Induced Microflow, The 15th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2011), Seattle USA, 2011.10.3.
14. 福山 真央, 火原 彰秀, マイクロ流体中液滴混合の高速画像解析, 日本分析化学会第 60 年会, 名古屋, 2011.9.16.
15. 関 康一郎, 火原 彰秀, イオン液体表面の分光分析とスペクトル解析法, 日本分析化学会第 60 年会, 名古屋, 2011.9.14.
16. 火原 彰秀, マイクロ二相流の制御と応用 (招待講演), 日本分析化学会第 60 年会, 名古屋, 2011.9.14.
17. Mao Fukuyama, Jan C.T. Eijkel, Albert van den Berg, Yumi Yoshida, Akihide Hibara, Ion Transfer at Microscopic Liquid Interfaces During Droplet Generation, JAIMA Discussion on Analytical Science and Technology 2011, Chiba, 2011.9.8.
18. Koichiro Seki, Akihide Hibara, Quasi-Elastic Light Scattering Measurements of Ionic Liquid Surfaces Contacting with Chloroform Vapor and Their Multivariate Analysis, JAIMA Discussion on Analytical Science and Technology 2011, Chiba, 2011.
19. Marie Harada, Mao Fukuyama, Kae Sato, Akihide Hibara, Light-Induced Capillary Microflow of Photoresponsive Liquid, JAIMA Discussion on Analytical Science and Technology 2011, Chiba, 2011.9.8.
20. Yuto Kazama, Akihide Hibara, Fabrication of 'Caldera' Mirror for Optical Micro Chemical Chip, JAIMA Discussion on Analytical Science and Technology 2011, Chiba, 2011.9.8.
21. Kohei Miyazaki, Akihide Hibara, Control of Capillary Introduction of Coating Solution to Glass Microchannels, JAIMA Discussion on Analytical Science and Technology 2011, Chiba, 2011.9.8.
22. Yusaku Fujii, Akihide Hibara, Application of Synchronous Detection System to Thermal Lens Microscope Imaging, IUPAC International Congress on Analytical Sciences (ICAS2011), Kyoto, 2011.5.24.
23. Kohei Miyazaki, Akihide Hibara, Inorganic Coating for Two-phase Separation in Microchips, IUPAC International Congress on Analytical Sciences (ICAS2011), Kyoto, 2011.5.23.

[その他]

ホームページ等

東京大学生産技術研究所火原研究室
<http://www.hibara.iis.u-tokyo.ac.jp/>
東京工業大学大学院理工学研究科化学専攻
岡田・火原研究室
<http://www.chemistry.titech.ac.jp/~okada/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

火原彰秀 (HIBARA AKIHIDE)
東京大学・生産技術研究所・准教授
研究者番号：30312995

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし